

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年5月21日 (21.05.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/041265 A1

(51) 国際特許分類: A61K 31/192, 31/216, A61P 9/00

芳賀都市貝町赤羽 2606 花王株式会社研究所内
Tochigi (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/011244

(22) 国際出願日: 2003年9月3日 (03.09.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-322474 2002年11月6日 (06.11.2002) JP
特願2002-323623 2002年11月7日 (07.11.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 花王株式会社 (KAO CORPORATION) [JP/JP]; 〒103-8210 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 新井 陽一 (ARAI, Youichi) [JP/JP]; 〒131-8501 東京都墨田区文花2丁目1番3号 花王株式会社研究所内 Tokyo (JP). 渡辺 卓也 (WATANABE, Takuya) [JP/JP]; 〒131-8501 東京都墨田区文花2丁目1番3号 花王株式会社研究所内 Tokyo (JP). 鈴木 淳 (SUZUKI, Atsushi) [JP/JP]; 〒321-3497 栃木県芳賀都市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 城倉 博子 (JOUKURA, Hiroko) [JP/JP]; 〒321-3497 栃木県

(74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所 (THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE); 〒103-0013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番6号共同ビル Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: BLOOD FLUIDITY IMPROVING AGENT

(54) 発明の名称: 血液流動性改善剤

(57) Abstract: A blood fluidity improving agent, a blood flow promoting agent and a cerebrovascular disorder ameliorating agent containing, as the active ingredient, at least one member selected from among chlorogenic acids, caffeic acid, ferulic acid and pharmaceutically acceptable salts thereof. The above-described blood fluidity improving agent, blood flow promoting agent and cerebrovascular disorder ameliorating agent are highly safe and can be taken over a long period of time.

(57) 要約: クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上を有効成分とする血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤。安全性が高く、長期間摂取できる血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤である。

明 細 書

血液流動性改善剤

技術分野

本発明は、血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤に関する。

背景技術

血液の循環は、人体組織に酸素及び栄養素の供給と老廃物の排泄役割に関与し重要な働きを有する。

近年、生活環境は、コンピューターをはじめとする情報機器の導入等により、長時間同一姿勢を維持した環境が多くなり、身体各所に血行不良を生じるヒトが増加している。また、季節変化も生命活動に変化をもたらし、例えば冬季においては、末梢循環等の血行不良を招くことが多い。また加齢による身体機能の低下はだれしも避けて通ることができず、血行不良が懸念される。

このように生活環境、季節変化あるいは加齢等のさまざまな要因により生じた血行不良は、身体各所の円滑な生命活動に支障を招き、その結果心身に不調を招くことが多々見られる。

従来の血行促進あるいは血行促進の要因である血液流動性を促進させる成分としては、コラーゲンペプチド（特開2002-121148号公報）、センダングサ属植物、特にビデンス・ピローサ又はその成分（特開2002-205954号公報）、γ-リノレン酸単独又はγ-リノレン酸と脂溶性抗酸化剤（特開2000-302677号公報）、ジラゼブ、その酸付加塩（特開平11-92382号公報）、ヒドロキシメチルフルフラール誘導体（特開平11-228561号公報）、エストロゲンアゴニスト（特開平10-7564号公報）、醸造酢（特開平10-28567号公報）、桑葉、梅仁、梅肉、紫蘇葉等

の素材（特開平10-127253号公報）、プラスミン及びプラスミノゲン活性化剤（特開平8-40931号公報）、ヒアルロン酸（特開平8-53356号公報）、イチヨウ葉中の一成分であるピロバリド（特開平7-53371号公報）などが知られている。

脳卒中は脳血管障害の一種で、脳梗塞、脳出血などに分類される。また日本国内における脳卒中死亡者は、統計上、ガン、虚血性心疾患について第3位と非常に多い疾患である。脳血管障害の危険因子としては、高血圧、糖尿病、高脂血症、喫煙、飲酒、肥満及びストレスなどの生活習慣に由来した因子が挙げられ、今後高齢化社会の到来でさらなる増加が懸念される。

従来、脳血管障害を予防する有効成分としては、医薬品としてはカルシウム拮抗薬、ACE阻害薬、 $\alpha\beta$ 遮断薬などが使用されている一方で、ドコサヘキサエノイル基を含む脂肪酸残基を有するグリセロリン脂質（特開2000-239168号公報）、MCP-1（Monocyte Chemotactic Protein-1）阻害剤（特開平11-60502号公報）、抗エンドセリン作用を有する化合物（特開平10-72363号公報）、キトサン（特開平10-182469号公報）、活性化プロテインC（特開平7-233087号公報）、ハプトグロビン（特開平6-128173号公報）などを利用する方法も提案されている。

発明の開示

しかし、現状において血液流動性改善、血行促進又は脳血管障害改善のための医薬品は、有効性に関しては満足できるものが多い反面、少なからず存在する止血しにくい、夜間における過剰降圧、低血圧、空咳、頭痛、めまい等の副作用のため患者にかかる負担が大きい。また、血液流動性改善、血行促進又は脳血管障害改善を有するといわれる食品あるいはその有効成分に関しても、その有効性には必ずしも満足できるものではなく、また血液流動性改善、血行促進又は脳血管障害改善の効果が発現されるまでに長期間を要するものが多い。従って本発明

は、血液流動性改善、血行促進又は脳血管障害の作用が高く、かつ、安全性に優れ、日常的な摂取にも負担にならない血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤を提供することを目的とする。

そこで本発明者は、長期的に服用又は摂取することができる安全性の高い成分の中から血液流動性改善効果、血行促進効果又は脳血管障害改善効果を有する成分を見出すべく種々検討した結果、クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上が優れた血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤として有用であることを見出した。また、末梢循環機能が低下しているヒトに対してクロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上を投与すると末梢循環を改善し、手足の冷えが改善され、体温低下も改善されることも見出した。また、本発明の素材は、医薬品で認められるような副作用はほとんどなく、日常生活において摂取が容易であることから健康食品や医薬品として有用であることを見出した。

すなわち、本発明は、クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上を有効成分とする血液流動性改善剤、血行促進剤、冷え改善剤、体温低下改善剤及び脳血管障害改善剤を提供するものである。

また、本発明は、クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の、血液流動性改善剤、血行促進剤、冷え改善剤、体温低下改善剤及び脳血管障害改善剤製造のための使用を提供するものである。

さらに、本発明は、クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の有効量を投与することを特徴とする血液流動性改善方法、血行促進方法、冷え改善方法、体温低下改善方法及び脳血管障害改善方法を提供するものである。

本発明の血液流動性改善剤、血行促進剤等は、血液流動性、血行、冷え、体温低下を改善するので生活環境、季節変化あるいは加齢等で生じるあらゆる血行不良の予防・治療に有用である。また、本発明の脳血管障害改善剤は、脳梗塞、脳出血、脳卒中の予防・治療に有用である。これらは安全性が高く、長期間経口摂取ができることから、医薬品だけでなく機能性食品、特定保健用食品等としても有用である。

発明を実施するための最良の形態

本発明で用いるクロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸は、これらを含む天然物、特に植物から抽出することもでき、化学合成により工業的に製造することもできる。

本発明におけるクロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸には、立体異性体が存在し、本発明では、純粋な立体異性体又はそれらの混合物を用いることができる。本発明におけるクロロゲン酸類には、具体的には、3-カフェイルキナ酸、4-カフェイルキナ酸、5-カフェイルキナ酸、3, 4-ジカフェイルキナ酸、3, 5-ジカフェイルキナ酸、4, 5-ジカフェイルキナ酸、3-フェルリルキナ酸、4-フェルリルキナ酸、5-フェルリルキナ酸及び3-フェルリル-4-カフェイルキナ酸等が含まれる（中林ら，コーヒー焙煎の化学と技術，弘学出版株式会社，p166-167）。

クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸は、塩にすることにより水溶性を向上させ、生理学的有効性を増大させることができる。これらの塩としては、薬学的に許容される塩であればよい。このような塩形成用の塩基物質としては、例えば、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ金属の水酸化物；水酸化マグネシウム、水酸化カルシウム等のアルカリ土類金属の水酸化物；水酸化アンモニウム等の無機塩基、アルギニン、リジン、ヒスチジン、オルニチン等の塩基性アミノ酸；モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリ

エタノールアミン等の有機塩基が用いられるが、特にアルカリ金属又はアルカリ土類金属の水酸化物が好ましい。本発明においては、これらの塩を調製してから、その他の成分からなる組成物中に添加したものでよいし、クロロゲン酸類と塩形成成分とを別々に該組成物中に添加して、この中で塩を形成せしめたものでよい。

クロロゲン酸類、カフェ酸を含有する天然物抽出物、特に植物抽出物としては、例えば、コーヒー、キャベツ、レタス、アーチチョーク、トマト、ナス、ジャガイモ、ニンジン、リンゴ、ナシ、プラム、モモ、アブリコット、チェリー、ヒマワリ、モロヘイヤ、カンショ、南天の葉、ブルーベリー、小麦などの植物から抽出したものが好ましい。

例えば、クロロゲン酸類は、コーヒー生豆、南天の葉、リンゴ未熟果等の植物体から抽出したものが好ましい。更にアカネ科コーヒー (*Coffee arabica* LINNE) の種子より、温時アスコルビン酸、クエン酸酸性水溶液又は熱水で抽出して得たものがより好ましい。

具体的には、生コーヒー豆抽出物としては、長谷川香料(株)「フレーバーフォルダー」、リンゴ抽出物としては、ニッカウキスキー(株)「アップルフェノン」、ヒマワリ種抽出物としては、大日本インキ化学工業(株)「ヘリアント」などが挙げられる。

フェルラ酸を含有する天然物抽出物、特に植物抽出物としては、例えば、コーヒー、タマネギ、ダイコン、レモン、センキュウ、トウキ、マツ、オウレン、アギ、カンショ、トウモロコシ、大麦、小麦、コメ等が好ましく、特にコメが好ましい。本発明におけるコメとは、イネ科イネ (*Oryza sativa* LINNE) の種実等の生又は乾燥物を意味する。

植物からフェルラ酸を抽出する方法としては、例えば、コメの糠より得られた米糠油を、室温時弱アルカリ性下で含水エタノール及びヘキサンで分配した後、含水エタノール画分に得られたフェルラ酸エステルを、加圧下熱時硫酸で加水分

解し、精製して得る方法があげられる。また、細菌 (*Pseudomonas*) を、フトモモ科チョウジノキ (*Syzygium aromaticum* MERRILL et PERRY) のつぼみ及び葉より水蒸気蒸留で得られた丁子油、又は丁子油から精製して得られたオイゲノールを含む培養液で培養し、その培養液を、分離、精製して得ることもできる。

またフェルラ酸は化学合成、例えば、バニリンとマロン酸との縮合反応によって製造することもできる (*Journal of American Chemical Society*, 74, 5346, 1952)。

本発明の前記成分は2種以上を併用してもよい。これらの成分は、成人(体重60kg)1日あたり10mg~10g、より好ましくは35mg~5g、更に好ましくは70mg~1g摂取するのが血液流動性改善作用、血行促進作用等の効果を得る点から好ましい。

血液の流動特性は、循環の受動的因子として、特に微小循環において重要になる。例えば、毛細血管、細小動静脈では、赤血球変形能、白血球粘着能といった血液細胞の力学的特性が血液レオロジーを支配する主要因子であり、それらの異常による微小循環障害は多くの疾患の原因と病態を構成するものと推定される。

血液流動性改善効果の測定方法としては、マイクロチャネル法 (Kikuchi, Y., Sato, K., Ohki H and Kaneko T.: "Optically accessible microchannels formed in a single-crystal silicon substrate for studies of blood rheology." *Microvasc. Res.* 44, 226-240 (1992))、レーザー回折法 (Manno S., Takakuwa Y., Nagao K., Mohandas N.: "Modulation of erythrocyte membrane mechanical function by beta-spectrin phosphorylation and dephosphorylation." *J. Biol. Chem.* 270(10), 5659-5665 (1995))、フィルター法 (Oonishi T., Sakashita K., Uyesaka N.: "Regulation of red blood cell filterability by Ca^{2+} influx and cAMP-mediated signaling pathways." *Am. J. Physiol.* 273(6), C1828-1834 (1997))、マイクロピペット法 (Discher D.E., Mohandas N.: "Kinematics of red cell aspiration by fluorescence-imaged microdeformation." *Biophys*

s J. 71 (4)1680-1694(1996)) が挙げられる。

このなかで、特に、マイクロチャネル法は最も汎用されている方法である。

本発明の血液流動性改善剤の投与対象としては、全血通過時間が10秒～1000秒の人が好ましい。

血行促進効果の測定方法としては、レーザードップラー血流計 (Abbot N.C., Ferrell W.R., Lockhart J.C., and Lowe J.G., : "Laser Doppler perfusion imaging of skin blood flow using red and near-infrared sources." J Invest Dermatol 107 882-886(1996)) ; 経皮酸素分圧測定 (Hanna G.P., Fujise K., Kjellgren O., Feld S., Fife C., Schroth G., Clanton T., Anderson V., Smalling R., : "Infrapopliteal interventions for limb salvage in diabetic patients." J. Am. Coll. Cardiol 30 664-669(1997)) ; 冷水浸漬試験 (Kamimura. M, Comparison of alpha-tocopheryl nicotinate and acetate on skin microcirculation., Am. J. Clin. Nutr., 27, 1110-1116(1974)) が挙げられる。この中で特に冷水浸漬試験は、汎用されている方法である。

本発明の血行促進剤の投与対象としては、例えば冷水浸漬試験で手又は指先を冷水浸漬 (15℃、5分) し、除去後の手又は指先の皮膚温の回復時間 (25℃に戻る時間)、すなわち冷水負荷後の指表面温度の回復時間が10分以上の人が好ましい。

血管障害因子には高血圧、糖尿病、高脂血症、喫煙、飲酒、肥満及びストレスなどがあげられるが、最終的な血管壁の変化は粥状動脈硬化症と細小動脈硬化症の大きく2つに分けられる。粥状動脈硬化症は、血管中膜の増大と血管平滑筋細胞の増殖、コレステリンの沈着と単核球・マクロファージの浸潤などからなる動脈硬化である。また、細小動脈硬化症は、より小さな血管でみられ血管中膜の変性壊死、硝子化が特徴である。この血管障害が脳循環系で発生した場合が脳血管障害であり、生命の危機にかかわる重大な疾患の一つである。

動物を対象とした脳血管障害改善効果の評価法としては、脳卒中易発症高血圧

ラット (SHRSP) (Yamori Y., Nagaoka A., Okamoto K., : "Importance of genetic factors in hypertensive cerebrovascular lesion. :An evidence obtained by successive selective breeding of stroke-prone and resistant SHR." Jpn circ. J., 38, 1095-1100(1974))、マウス (Sasaki M., Laurence T.D., Teramoto A., : "マウス急性硬膜下血腫モデルと虚血性病変" 日本脳神経外科学会総会抄録集, 59, 273(2000))、ウサギ (磯谷栄二, 伊東芳史, 水野祐介, 大野喜久朗, 平川公義, : "ウサギくも膜下出血モデルに対する低用量ニトログリセリン・塩酸ファスジル併用療法" 脳血管れん縮, 14, 313-317(1999))、イヌ (川島明次, 糟谷英俊, 笹原篤, 井沢正博, 高倉公朋, 宮島誠: "ニカルジピン徐放剤のイヌ脳血管れん縮モデルにおける有効性" 脳血管れん縮, 14, 322-325(1999)) などの方法が報告されている。

本発明においては、SHRSPを使用した実験で脳卒中に対する効果を評価した。SHRSPは、高血圧自然発症ラット (SHR) から選択交配によって分離された近交系である。SHRSPは加齢とともに高血圧を発症し、脳血管障害を起こすので、脳卒中を自然に発症する唯一のモデル動物で、世界中で広く用いられている。

このSHRSPの病態は、病理学的にはヒトと極めて類似しており、脳出血と脳梗塞が両方発症してくる。共に病理的には動脈壊死が基礎病変で破綻すれば脳出血となり、血栓を伴って脳梗塞を発症する。

本発明のクロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上は、血液流動性を改善する結果、血行促進され、冷え改善剤、体温低下改善剤としても有用であり、また、脳血管障害改善剤としても有用である。これらの有効成分は、本発明の血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤中に0.01～80重量%、さらに0.05～60重量%、特に0.1～60重量%配合するのが好ましい。

本発明の血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤を医薬品として用いる場合、上記有効成分に薬学的に許容される担体を添加して、経口用又は非

経口用の組成物とすることができる。

経口用組成物としては、錠剤、顆粒剤、細粒剤、丸剤、散剤、カプセル剤（硬カプセル剤及び軟カプセル剤を含む）、トローチ剤、チュアブル剤、サプリメント等の固形状製剤あるいは粉末状製剤等などが挙げられる。またこれらの製剤は、サプリメント等の食品として用いてもよい。

これらの製剤中の本発明の成分の含有量は、1日あたりの有効摂取量を考慮すると0.1～80重量%、特に10～60重量%が好ましい。

本発明の血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤を食品として用いる場合、当該食品の形態としては、前記製剤の他、有効成分の他に慣用の食品添加物を加えた飲料、醤油、牛乳、ヨーグルト、味噌等の液状又は乳状又はペースト状の食品；ゼリー、グミ等の半固形状食品；クッキー、ガム、豆腐等の形態が挙げられる。

液状、乳状又はペースト状の食品又は半固形状食品中の本発明の成分の含有量は、1日あたりの有効摂取量を考慮すると0.01～50重量%、特に0.05～10重量%が好ましい。

また、非経口用組成物としては、注射剤などの静脈内投与製剤、坐剤、皮膚外用剤などが挙げられる。

本発明の血液流動性改善剤、血行促進剤及び脳血管障害改善剤は、安全性に優れ、健常者、半健常者、病人が日常、飲食しても何ら問題なく、錠剤、顆粒剤等のサプリメントの形態や、種々の飲料の形態、各種食品の形態、特に特定保健用食品の形態で用いてもよい。

実施例

試験例1（血液流動性評価）

i) 実験材料及び方法

(a) 使用動物

6週齢の脳卒中易発性高血圧ラット（SHRSP/Izm、オス）を1週間以上馴化したのちに試験を開始した。ラットはすべて温度20～26℃、湿度40～70%、照明時間12時間（午前6時～午後6時）の条件下で飼育した。

（b）投与方法及び投与量

実施例、比較例の検体を8週齢から1日1回、28日間反復投与した。投与方法は経口投与とし、金属製経口ゾンデを取り付けたポリプロピレン製ディスプレイ注射筒を用いて強制投与した。実施例はクロロゲン酸（シグマケミカル社）を50mg/kg/日、比較例は注射用水（大塚製薬）を使用した。実験例の媒体は、注射用水とした。

飼料は、入荷から群分けまでは、固形飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業（株））を、群分け後は固形飼料（SP（0.4%食塩含有飼料）、オリエンタル酵母工業（株））を自由摂取させた。飲料水は、入荷から群分けまでは、水道水を、群分け後は1%食塩水を自由摂取させた。

（c）試験方法

検体を28日間反復投与終了後、予め抗凝固剤であるヘパリン350 μ L（全血に対し5%添加）を注入したベノジェクトII 真空採血管7mL（テルモ社）に採血した。採血後に、すばやく混合して血液測定サンプルとした。測定装置は、細胞マイクロレオロジー測定装置（MC-FAN：日立原町電子工業社）を使用した。装置は、毛細血管のモデルとなる微小流路のアレイを組み込み、一定の圧力差の下で、血液細胞の流れ特性を測定するものである。毛細血管モデルは、シリコン単結晶基板に7 μ mの微小流路を加工したものをを用いた。

測定は、まず生理食塩水100 μ Lが20cm水柱の圧力差下で毛細血管モデルを通過する時間を測定した（測定値は補正に使用）。次に血液測定サンプル100 μ Lの通過時間（秒）を計測した。計測は、10 μ Lごとに行った。顕微鏡により、血液測定サンプルの毛細血管モデルの通過を観察した。通過時間を血液流動性の指標とし、通過時間が短いほど流動性が改善されたと判定した。

ii) 結果

表1から明らかなように、実験例（クロロゲン酸投与群）は比較例（注射用水投与群）に比べ通過時間が短くなっていることから血液流動性の改善が認められた。

表 1

血液通過量 μL	通過時間 (秒)	
	実施例	比較例
10	4.87	5.46
20	9.67	10.59
30	14.31	15.64
40	19.34	20.73
50	24.59	26.10
60	30.03	32.24
70	35.90	37.93
80	41.65	43.70
90	47.58	49.90
100	53.38	56.34

試験例 2（冷水浸漬試験(Cooling-rewarming test)による末梢循環機能評価)

i) 実験材料及び方法

末梢循環機能が低下している健常女性 5 名に、実施例として生コーヒー豆抽出物配合野菜果汁飲料 125 mL（クロロゲン酸類として 140 mg 配合（0.1 重量%））を、1 日 1 本ずつ 6 週間飲用させた。6 週間飲用後 3 週間おいて、同じ被験者に比較例として生コーヒー豆抽出物を含有していない野菜果汁飲料 125 mL（クロロゲン酸類として 6 mg 配合（0.005 重量%））を、1 日 1 本ずつ 6 週間飲用させた。この被験者の末梢循環機能を冷水浸漬試験により評価した。試験は被験者を 20℃（50RH%）で 30 分馴化後、左手手首まで 15℃の冷水に 5 分間浸漬し、除去後の左手第 3 指末節指腹皮膚温の回復温度を測定した（アンリツ HPD-2236 DIGITAL THERMOMETER）。

ii) 結果

得られた結果を表2に示す。尚、表2には飲用前及び6週間飲用後の45分後の回復温度を示した。表2から明らかなように、実施例の方が有意な体温上昇が認められクロロゲン酸類の服用により末梢循環機能、すなわち血行が改善されたことがわかる。また、血行改善により冷えの改善及び体温低下改善の効果も認められた。

表2：冷水浸漬試験による回復温度（45分後の皮膚温）

	飲用開始前	6週間後
実施例	20.5±1.0	22.8±2.0*
比較例	21.7±1.3	22.2±1.4

平均値±標準誤差(n=5)

* p<0.05 vs 飲用開始前 (Wilcoxon signed rank test)

試験例3 冷え、体温低下の症状に対する効果

i) 実験材料及び方法

男4名を対象に実施例としてフェルラ酸19mg配合錠剤（2重量%）、比較例としてフェルラ酸無配合錠剤（0重量%）を作り、冷え、体温低下の症状の変化を評価した。

試験は午前中の症状の程度を評価した後に錠剤を摂取し、午後の症状の程度を評価した。症状の程度は下記の5段階で評価し改善スコアで評価した。

評点

- 1 症状を感じる
- 2 症状をやや感じる
- 3 どちらとも言えない
- 4 症状をあまり感じない
- 5 症状を感じない

改善スコア＝摂取後の評点－摂取前の評点

ii) 結果

表 3 に冷え、表 4 に体温低下の結果を示した。本発明は、いずれの症状とも改善スコアが高くこれらの症状の軽減を認めた。

表 3 : 冷え

	実施例	比較例
摂取前	3.5	3.5
摂取後	4.3	3.3
改善スコア	0.8	-0.2

表 4 : 体温低下

	実施例	比較例
摂取前	3.5	3.8
摂取後	4	3.5
改善スコア	0.5	-0.3

試験例 4 脳血管障害改善効果の評価

i) 実験材料及び方法

(a) 使用動物

6 週齢の脳卒中易発性高血圧ラット (SHRSP/Izm、オス) を 1 週間以上馴化したのちに試験を開始した。ラットはすべて温度 20～26℃、湿度 40～70%、照明時間 12 時間 (午前 6 時～午後 6 時) の条件下で飼育した。

(b) 投与方法及び投与量

実施例、比較例の検体を 8 週齢から 1 日 1 回、49 日間反復投与した。投与方法は経口投与とし、金属製経口ゾンデを取り付けたポリプロピレン製ディスプレイ注射筒を用いて強制投与した。実施例はクロロゲン酸 (シグマケミカル社) を 50mg/kg/日、比較例は注射用水 (大塚製薬) を使用した。実施例の媒体は注射用水とした。

飼料は、入荷から群分けまでは、固形飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母工業 (株)) を、群分け後は固形飼料 (SP (0.4%食塩含有飼料)、オリエンタル酵母工業 (株)) を自由摂取させた。飲料水は、入荷から群分けまでは、水道水

を、群分け後は1%食塩水を自由摂取させた。

(c) 試験方法

最終投与日に生存している動物は、ペントバルビタール下にて放血致死させ、病理組織学的検査で脳卒中の有無を調べた。なお、投与期間途中で死亡した動物についてはそのつど脳卒中の有無を調べた。

ii) 結果

表5から明らかなように、実施例(クロロゲン酸投与群)は比較例(注射用水)に比べ明らかに脳卒中の発生が抑制されており、脳血管障害改善効果が認められた。

表 5

群	使用匹数	脳卒中確認数
実施例	10	3
比較例	10	7

実施例 1 (軟カプセル剤)

ゼラチン	70.0 (重量%)
グリセリン	22.9
パラオキシ安息香酸メチル	0.15
パラオキシ安息香酸プロピル	0.51
水	6.44

上記組成からなる軟カプセル剤皮(オーバー型、重さ150mg)の中に大豆油400mgとカフェ酸50mgとフェルラ酸50mgを定法により充填し、軟カプセル剤を製造した。

実施例 2

次に飲料としての利用例を示す。

脱脂粉乳	3.5 (重量%)
------	-----------

ミルクカゼイン酵素分解物	3. 5
フラクトース	9. 0
クロロゲン酸	0. 3
フェルラ酸ナトリウム	1. 0
クエン酸	0. 1
アスコルビン酸	0. 1
香料	0. 1
水	82. 4

上記組成の飲料の保存安定性は高く、また、風味も良好であった。

請求の範囲

1. クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上を有効成分とする血液流動性改善剤。
2. クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上の含有量が0.01～80重量%である請求項1記載の血液流動性改善剤。
3. クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上を有効成分とする血行促進剤。
4. クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上の含有量が0.01～80重量%である請求項2記載の血行促進剤。
5. クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上を有効成分とする冷え改善剤。
6. クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上を有効成分とする体温低下改善剤。
7. クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上を有効成分とする脳血管障害改善剤。
8. クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上の含有量が0.01～80重量%である請求項7記載の脳血管障害改善剤。
9. クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上の、血液流動性改善剤製造のための使用。
10. クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上の含有量が0.01～80重量%である請求項9記載の使用。
11. クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ば

れる１種以上の、血行促進剤製造のための使用。

１２．クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の含有量が０．０１～８０重量％である請求項１１記載の使用。

１３．クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の、冷え改善剤製造のための使用。

１４．クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の、体温低下改善剤製造のための使用。

１５．クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の、脳血管障害改善剤製造のための使用。

１６．クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の含有量が０．０１～８０重量％である請求項１５記載の使用。

１７．クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の有効量を投与することを特徴とする血液流動性改善方法。

１８．クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の１日投与量が１０ｍｇ～１０ｇである請求項１７記載の血液流動性改善方法。

１９．クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の有効量を投与することを特徴とする血行促進方法。

２０．クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の１日投与量が１０ｍｇ～１０ｇである請求項１９記載の血行促進方法。

２１．クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の有効量を投与することを特徴とする冷え改善方法。

２２．クロロゲン酸類、カフェ酸、フェルラ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる１種以上の有効量を投与することを特徴とする体温低下改善方

法。

23. クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上の有効量を投与することを特徴とする脳血管障害改善方法。

24. クロロゲン酸類、カフェ酸及びそれらの薬学的に許容される塩から選ばれる1種以上の1日投与量が10mg～10gである請求項23記載の脳血管障害改善方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/11244

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61K31/192, 31/216, A61P9/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A61K31/192, 31/216

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 4-243822 A (Tsumura & Co.), 31 August, 1992 (31.08.92), Full text (Family: none)	1-16
X	JP 2002-145767 A (Eijiro TAGASHIRA), 22 May, 2002 (22.05.02), Full text (Family: none)	1, 2, 5, 6, 9, 10, 13, 14
P, X	JP 2002-371002 A (Kirin Brewery Co., Ltd.), 26 December, 2002 (26.12.02), Full text (Family: none)	1, 2, 5, 6, 9, 10, 13, 14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
10 October, 2003 (10.10.03)

Date of mailing of the international search report
28 October, 2003 (28.10.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/11244

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 17-24

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The invention as set forth in claims 17-24 is relevant to method for treatment of the human body by therapy.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/192, 31/216, A61P9/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/192, 31/216

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 4-243822 A (株式会社ツムラ) 1992. 08. 31, 文献全体 (ファミリーなし)	1-16
X	JP 2002-145767 A (田頭栄治郎) 2002. 05. 22, 文献全体 (ファミリーなし)	1, 2, 5, 6, 9, 10, 13, 14
PX	JP 2002-371002 A (麒麟麦酒株式会社) 2002. 12. 26, 文献全体 (ファミリーなし)	1, 2, 5, 6, 9, 10, 13, 14

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 10. 03

国際調査報告の発送日

28.10.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内藤 伸一

4P

8615

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 17-24 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲 17-24 の発明は、治療による人体の処置方法に関するものである。

2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。